

## Über die Bestimmung der Pektinstoffe

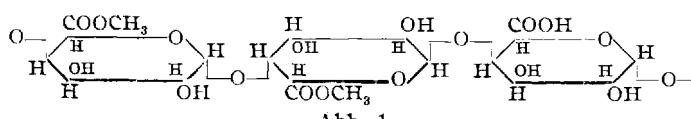
Von Dr. G. G. SCHNEIDER und Dipl.-Ing. H. BOCK  
Mitt. aus dem Institut für Chem. Technik der T. H. Karlsruhe  
Eingeg. 23. Dezember 1937

Bisher wurde die technische Bestimmung der Pektinstoffe hauptsächlich nach der Calciumpektatmethode von Carré-Haynes<sup>1)</sup>, und die ausführliche, genaue Bestimmung durch Analyse der einzelnen Pektinkomponenten nach Ehrlich vorgenommen<sup>2)</sup>. Außerdem gibt es eine Reihe von Bestimmungsmethoden wie die nach Chernoff<sup>3)</sup> usw., die ebenfalls wie die Calciumpektatmethode die Menge der Pektinstoffe angeben sollen. Weiter stützte sich die Industrie auf Viscositätsmessungen in konz. wäßrigen Lösungen, auf Messungen der optischen Drehungen sowie des Brechungsindex. Als wirkliches Maß für die Qualität der Pektinstoffe hat sich jedoch nur die direkte Prüfung durch Geleefproben bewährt, die aber keine eigentliche Bestimmungsmethode, sondern nur eine zweckbedingte Vorprüfung darstellt. Hiervon abgesehen sind alle oben angegebenen Bestimmungsmethoden unrichtig, weil sie sich auf überholte Anschauungen der Pektinstoffe stützen.

Die große Mannigfaltigkeit in der Erscheinung der Pektinstoffe sowie ihre Wasserlöslichkeit haben lange die Erkenntnis verhindert, daß die Pektinstoffe als typisch hochmolekulare Stoffe ebensowenig wie Cellulose, Stärke oder Kautschuk mit den Methoden der niedermolekularen, organischen Chemie konstitutionell aufgeklärt werden können. Darin sind die Gründe für die völlig irtümlichen Anschauungen über die Konstitution der Pektinstoffe zu sehen, die heute noch in der Literatur äußerst verbreitet sind<sup>2a)</sup>. Erst die individuelle Übertragung der Forschungsmethodik, wie sie an den anderen hochmolekularen Stoffen entwickelt wurde, hat einen wirklichen Einblick in die Chemie der Pektinstoffe gewährt<sup>4)</sup>.

Danach kann heute als sicher angenommen werden, daß die Pektinstoffe durch mehr oder minder methylierte Galakturonsäureketten charakterisiert sind, die in genetischem Zusammenhang mit den sie stets begleitenden Pentosan- und Hexosanketten stehen.

Es muß an dieser Stelle noch einmal darauf hingewiesen werden, daß Arabinose und Galaktose nicht, wie dies Ehrlich angenommen hat und wie dies in der gesamten Literatur noch wiedergegeben wird<sup>2a)</sup>, Bestandteile des Pektinmoleküls darstellen, sondern lediglich Verunreinigungen sind. Ebenso sind im Obstpektin entgegen der Behauptung der Literatur<sup>5)</sup> keine Acetylgruppen vorhanden.



(Die Formel stellt 3 Glieder einer teilweise methylierten Polygalakturonsäure dar. Die Kette ist nach beiden Seiten fortgesetzt zu denken.)

<sup>1)</sup> Biochem. J. **16**, 60 [1922]; **20**, 7 [1926].

<sup>2)</sup> a) R. Ripa: Die Pektinstoffe. Verlag Serger u. Hempel, Braunschweig 1937, S. 162. Abderhalden: Handbuch der biolog. Arbeitsmethoden, Teil 11, I, S. 1661. b) Siehe weiter Klein: Pflanzenanalyse, u. Ullmann: Enzyklopädie d. techn. Chemie.

<sup>3)</sup> Wichtmann u. Chernoff, Methods of Analysis of the A. O. A. C. J. Ass. Off. Agr. Chem., 212 [1924].

<sup>4)</sup> F. A. Henglein u. G. G. Schneider, Ber. dtsch. chem. Ges. **69**, 321 [1936]; G. G. Schneider u. M. Ziervogel, ebenda **69**, 2530 [1936]; G. G. Schneider u. U. Fritschi, ebenda **69**, 2537 [1936]. **70**, 1611 [1937]; G. G. Schneider u. H. Bock, ebenda **70**, 1617 [1937].

<sup>5)</sup> Abderhalden, 1. c., S. 1669; Ripa, 1. c., S. 162; Ehrlich u. Sommerfeld, Biochemi. Z. **168**, 276, 320 [1926].

Inhalt: Einleitung — Die Gelierfähigkeit der Pektinstoffe als Funktion der Molekülgroße — Bisher gebräuchliche Bestimmungsmethoden — Quantitative Erfassung — Messung der Qualität — Diskussion und Auswertung der Analysenmethodik.

Wie bei allen Hochmolekularen spielt für die Eigenschaften der Pektinstoffe die Molekülgroße eine ausschlaggebende Rolle<sup>6)</sup>. Auch bei Pektin liegen nicht einheitlich große Moleküle, sondern polymerhomologe Gemische vor, also Gemische von Pektinmolekülen verschiedenster Größe. Die Molekülf orm wurde in den Estern als gestreckt erkannt, aber bedeutend weniger gestreckt als bei den Celluloseestern, obwohl auch Pektinester Film- und Fadenbildung zeigen<sup>7)</sup>.

### Die Gelierfähigkeit der Pektinstoffe — eine Funktion der Molekülgroße.

Zum Beweis dieser Behauptung sei im folgenden der Zusammenhang zwischen Gelierfähigkeit und Molekülgroße bei Obstpektin, wie es für technische Zwecke zur Verwendung kommt, untersucht.

Man hat bisher schon öfters versucht, die Viscosität in wäßrigen Lösungen als Angabe für die Qualität der Pektinstoffe heranzuziehen; man mußte aber immer wieder feststellen, daß minderwertiges Pektin oft höhere Viscosität zeigte als hochwertiges<sup>8)</sup>. Aus diesem Grunde sowie aus den irrtümlichen Molekulargewichtsmessungen Ehrlichs, die stets zu einem gleichen Wert führten, hat man bisher den Zusammenhang zwischen Molekülgroße und Gelierfähigkeit nicht erkannt oder nur vermutet, weil man stets noch an den Ringvorstellungen Ehrlichs klebte, der glaubte, die Gelierfähigkeit auf die Bildung einer Gel-Pektolsäure zurückzuführen zu können<sup>9)</sup>. Man hat jedoch bisher die Viscosität der wäßrigen Pektinlösungen gemessen. Die starke Assoziationsfähigkeit der Pektinstoffe, bedingt durch die Anwesenheit der Carboxylgruppe, verursacht in verd., wäßrigen Lösungen Schwambildung und Solvatation. Um diese zu vermeiden, müssen die Messungen in nicht polaren Lösungsmitteln, z. B. in Aceton, ausgeführt werden. Dies wird möglich durch Veresterung der Pektinstoffe, am besten durch Überführung in Nitropektin, wie auch die Cellulose sich bezüglich der Molekülgroße am leichtesten durch Überführen in Nitrocellulose erfassen läßt. Bei der Überführung von Nitropektin in Acetylpektin konnte bewiesen werden<sup>10)</sup>, daß die Pektinstoffe bei schonender Nitrierung mit höchst konz. Salpetersäure mit starkem NO-Gehalt (spez. Gewicht 1,54) ohne wesentlichen Moleküllabbau in Nitropektin übergehen.

In einigen Kurven und Tabellen wird nun die Gelierfähigkeit, angegeben durch die Geleefestigkeit, der Molekülgroße gegenübergestellt, die aus den betreffenden Pektinstoffen durch Veresterung und Messung der Viscosität in Aceton ermittelt wurde. Während die Geleefestigkeit, wie weiter unten genau ausgeführt werden wird, durch die Abhängigkeit von den verschiedensten Faktoren nur äußerst subjektiv und schwierig feststellbar ist, haben wir es bei den Viscositätsmessungen von Nitropektin in Aceton mit streng reproduzierbaren Werten zu tun. Die Geleefestigkeit wurde mit dem Bloomschen Gelometer durch Messung des Gewichtes erfaßt, durch das ein Stempel in das Gelee eingedrückt wird<sup>11)</sup>.

<sup>6)</sup> S. a. G. G. Schneider u. H. Bock, Ber. dtsch. chem. Ges. **70**, 1628 [1937].

<sup>7)</sup> F. A. Henglein u. G. G. Schneider, ebenda **69**, 323 [1936].

<sup>8)</sup> R. Ripa, 1. c., S. 170.

<sup>9)</sup> Abderhalden, 1. c., S. 1678.

<sup>10)</sup> G. G. Schneider u. U. Fritschi, 1. c.

<sup>11)</sup> R. Ripa, 1. c., S. 346.

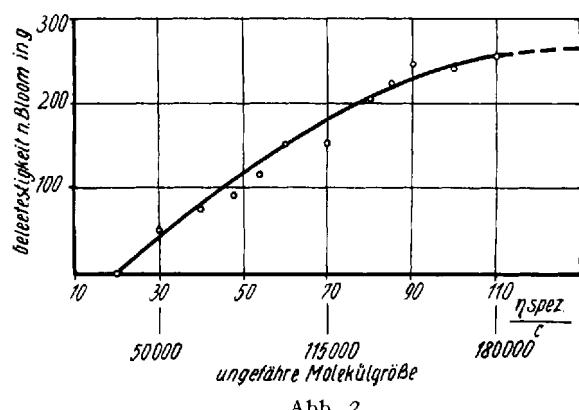


Abb. 2.

$\eta_{\text{spez.}} / c$  bedeutet  $\eta_{\text{spez.}} = \frac{\eta_{\text{Lösung}}}{\eta_{\text{Lösungsmittel}}} - 1$   $\eta$  = Viskosität, gemessen in Sekunden  
 $c$  = Grundmolarität der Lösung = Konzentration dividiert durch Molekulargewicht des Grundmoleküls. Für Nitropektin = 250.

Festigkeit des Gelees	$\eta_{\text{spez.}} / c$ des Esters in Aceton gemessen	ungefähre Durch- schnittsmolekülgröße
Zähes Gelee (220–300 g) .....	110	etwa 180000
Sehr festes Gelee (180–220 g) .....	85	etwa 140000
Festes Gelee (130–180 g) .....	70	etwa 115000
Mittleres Gelee (100–130 g) .....	55	etwa 90000
Sehr weiches Gelee (20–50 g) .....	30	etwa 50000
Kein Gelee .....	20	etwa 30000

Unter Molekülgröße ist das Durchschnittsmolekulargewicht zu verstehen, wobei die Verteilungsart der Einzelmolekulargewichte bei feststehendem Durchschnittsmolekulargewicht wie stets bei polymer-homologen Gemischen ebenfalls eine Rolle spielt.

Da hiernach eine deutliche Parallele zwischen Molekülgröße und Geleefestigkeit der Pektinstoffe vorhanden ist, können wir durch Messung der durchschnittlichen Molekülgröße die Gelierfähigkeit der Pektinstoffe ermitteln, wie wir im folgenden an Hand einiger praktischer Beispiele zeigen wollen.

1. Beispiel:  $\eta_{\text{spez.}} / c$  von Pektinestern aus Pektinstoffen mit verschiedener Vorbehandlung gewonnenen

Rohmaterial	Geleebildung	$\eta_{\text{spez.}} / c$
Gutgetrockneter Trester .....	gut	78
Etwas gegorener Trester .....	mittel	55
Stark gegorener Trester .....	schlecht	40

Wie jedem Praktiker bekannt, ist die Güte eines Pektinsaftes u. a. abhängig von der Beschaffenheit des Rohmaterials. Aus der Tabelle ist ersichtlich, daß die schlechte Gelierkraft eines aus gegorenem Rohmaterial hergestellten Pektinsaftes auf Molekülabbau zurückzuführen ist.

2. Beispiel: Verschiedene Auskocharten von Pektinstoffen aus Apfelterster.

Auskoch	1.	2.	3.	4.
1/2 h mit einer 1/4%igen Milchsäure .....	80	56	34	25
1/2 h mit einer 1%igen Milchsäure .....	78	47	26	17
1 h mit einer 1/4%igen Milchsäure .....	56	35	21	—

Die in der Tabelle angegebenen Werte, ausgedrückt durch  $\eta_{\text{spez.}} / c$ , ergeben ein Bild von der Güte der durch verschiedene Behandlungsart des Rohmaterials gewonnenen Produkte.

3. Beispiel: Auch die schädliche Wirkung der Gärung des Rohmaterials sowie der Pektinsäfte selbst beruht auf einem Molekülabbau. Es wurde der Abbau von Pektinpräparaten bei Einwirkung von Filtragol bei 20° verfolgt.

Enzymatischer Einfluß auf Pektinlösungen, verfolgt durch die Molekülgröße der Ester.

Dauer der Einwirkung von Filtragol (in h)	$\eta_{\text{spez.}} / c$	Dauer der Einwirkung von Filtragol (in h)	$\eta_{\text{spez.}} / c$
0	54	6	17
1	50	8	15
2	44	15	11
4	21		

Aus diesen Daten und Kurven läßt sich Parallelität zwischen der Molekülgröße der Pektinester und den Geleeeigenschaften der Pektinstoffe beweisen. Es ist jedoch zu bedenken, daß wir es bei der Gelierung mit Pektinstoffen in wäßrigen Lösungen zu tun haben, wo große Assoziationsneigung besteht. Bei falscher Behandlung, etwa falscher Trocknung, zeigen sich bei den Pektinstoffen wie bei jedem Kolloid Alterungerscheinungen, die die Geleebildung beeinflussen. So nimmt die Geleebildung eines Pektins bei konstanter Molekülgröße der Ester ab, wenn man es in Alkohol ausfällt, stark preßt oder falsch trocknet.

$\eta_{\text{spez.}} / c$	Festigkeit nach Bloom vor der Trocknung	Festigkeit nach Bloom nach falscher Trocknung
86	218	130

Hierdurch altert das Kolloid, die Löslichkeit verändert sich und damit wahrscheinlich auch die Teilchenform in wäßriger Lösung. Solche kolloiden Erscheinungen sind jedoch jedem Praktiker bekannt und lassen sich leicht vermeiden. Die Geliereigenschaft ist, wie ausdrücklich betont wird, nicht nur eine Funktion der Molekülgröße, sondern auch noch von anderen Faktoren abhängig, wie z. B. Teilchenform in wäßriger Lösung,  $p_H$ , Veresterung mit Methylalkohol usw.; aber die Molekülgröße ist die wesentlichste Funktion, und alle anderen Faktoren können willkürlich konstant gehalten werden.

#### Die bisher gebräuchlichsten Bestimmungsmethoden für die Pektinstoffe.

##### Die Calciumpektatmethode.

Sie beruht auf einem Abbau der alkaliempfindlichen Pektinstoffe mit Natronlauge und Bestimmung der Spaltprodukte (Pektinsäure genannt) durch Fällen mittels Calciumchlorid.

Die Untersuchung der Spaltprodukte zeigt, daß bei der Behandlung mit Natronlauge eine äußerst starke Spaltung etwa auf  $1/50$  bis  $1/100$  der Molekülgröße eingetreten ist, und daß diese sog. Pektinsäure ein Gemisch bereits sehr kleiner Spaltprodukte darstellt. Die Ester sind schon wasserlöslich, ihre Molekülgröße liegt weit unter 10000. Diese undefinierbaren Spaltprodukte bilden hydrophile Gallerien von äußerster Adsorptionsfähigkeit. Abgesehen davon, daß das einfache Trocknen dieser Kolloide im Trockenschrank durch Verhornungerscheinungen und Adsorptionen zu Fehlern führen muß, geht die Wertlosigkeit dieser Methode aus folgender Erwägung hervor:

Für die technische Verwertung der Pektinstoffe insbes. als Verdickungs- und Gelierungsmittel sind, wie auch obige Kurven zeigen, die großen Pektinmoleküle von Bedeutung. Je besser die Pektinmoleküle bei der Gewinnung aus dem Pflanzennmaterial erhalten bleiben, je geringer der Abbau ist, desto wertvoller ist technisch das Pektin. Da aber bei der Gewinnung, insbes. bei der Säurehydrolyse, wie sie technisch angewandt wird, als auch durch Gärungerscheinungen sehr starke Abbaumöglichkeiten bestehen, sind teils sehr geringe, teils aber sehr beträchtliche Mengen kleiner und kleinsten Spaltprodukte von Molekülgrößen unter 20000 in den Pektinsäften, die für die Verwertung der Pektinstoffe minderwertig sind und lediglich wie die Pentosane als Ballaststoffe und Füllstoffe wirken. Die Menge dieser nicht mehr gelierenden Spaltprodukte, die bis zu 30% betragen kann, wird nun ebenso von der Calciumpektatmethode erfaßt wie die Spaltprodukte, die aus den großen eigentlich zu messenden Pektinmolekülen herrühren. Dazu geht eine völlige Abspaltung des Methylalkohols, der einen wesentlichen Bestandteil der Pektinstoffe darstellt, sowie je nach der Beschaffenheit der Pektinstoffe und der Dauer der Behandlung durch Natronlauge eine mehr oder minder starke Zersetzung der Galakturonäuren vor sich (Abb. 3). Wie aus der Kurve ersichtlich ist, erfaßt die Calciumpektatmethode je nach den Bedingungen 60–110% der wirklichen Pektinmenge. Sie ist außerdem wegen der schweren Filtrierbarkeit des Calciumpektates äußerst langwierig in der Durchführung und muß aus diesen Gründen heute als völlig unrichtig sowohl zur quantitativen

Erfassung der Pektinstoffe als auch zu ihrer qualitativen Bewertung abgelehnt werden.

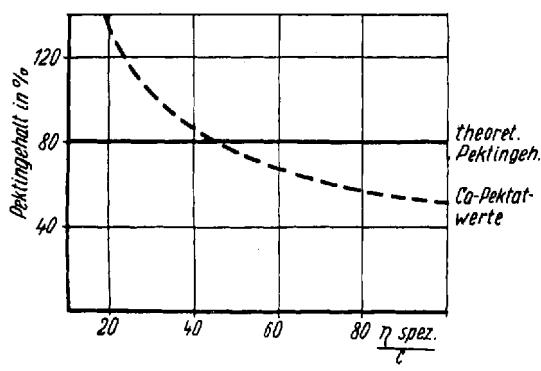


Abb. 3.

Die Methode von Wichtmann und Chernoff<sup>2)</sup>.

Nach dieser in Amerika viel verwendeten Bestimmungsmethode wird das Pektin mit Salzsäure abgebaut und die Pektinsäure mit Alkohol gefällt und getrocknet usw. Im großen ganzen haften dieser Methode dieselben Mängel an wie der Calciumpektatmethode. Auch hier werden die vorher schon vorhandenen Spaltprodukte, dazu aber noch die begleitenden Pentosane mitbestimmt, die in dem 96%igen Alkohol größtenteils unlöslich sind.

Aber nicht nur diese mehr technischen Bestimmungsmethoden, sondern auch die sog. exakte Pektinbestimmung, wie sie, auf Ehrlich zurückgehend, in allen Hand- und Fachbüchern auch in den neuesten Auflagen<sup>2a)</sup> noch zu finden ist, sind völlig unrichtig.

#### Die sog. „große Pektinanalyse“.

Zur genauen Erfassung des Pektins diente u. a. die Bestimmung folgender Komponenten<sup>2a)</sup>: Galakturonsäure, Arabinose, Galaktose, Essigsäure, Methylalkohol usw.

1. Acetylgruppen sind in Obstpektin überhaupt nicht vorhanden; die etwa 10% Essigsäure früherer Autoren (Ehrlich) sind einfach auf Aufspaltung des Moleküls und Verwechslung mit der in großen Mengen dabei auftretenden Ameisensäure zurückzuführen. Damit fällt die Bestimmung der Essigsäure weg.

2. Galaktose und Arabinose sind ebenfalls keine Komponenten des Pektinmoleküls, sondern die Pektinstoffe sind stets mehr oder minder je nach der Gewinnungsart, der Fruchtart, der Reife von Pentosanen und Hexosanen wechselnder Menge und Zusammensetzung, mit denen sie in genetischem Zusammenhang stehen, in physikalischer Mischung begleitet. Für die Eigenschaft der Pektinstoffe haben diese jedoch direkt keine Bedeutung. Die Pentosane und Hexosane sind dennoch Ballaststoffe; man bestimmt sie am besten indirekt durch genaue Bestimmung des Pektins.

3. Die Menge der Galakturonsäure wurde bisher stets aus dem  $\text{CO}_2$ -Wert errechnet, der z. B. nach Töllens-Lefèvre ermittelt wurde<sup>12)</sup>. Nun bestehen aber die Pektinstoffe aus großen, kleinen und kleinsten Molekülen, und gerade die kleinsten Moleküle, die durch die z. T. brutalen Gewinnungsmethoden in großer Menge vorliegen können, besitzen keine Geliefertfähigkeit und können daher auch nicht mehr als Pektinstoffe bezeichnet werden. Mit der Bestimmung der Menge Galakturonsäure, geschlossen aus der Anzahl der Carboxylgruppen, hat man also noch keinen Anhaltspunkt für die Menge der Anteile der Polygalakturonsäure, die das Wesen der Pektinstoffe bestimmen. Auch bei rein wissenschaftlichen Untersuchungen des Pektins z. B. für medizinische oder pharmazeutische Zwecke genügt nicht die Ermittlung der Gesamtanzahl Galakturonsäure, sondern es müssen diese unkontrollierbaren Spaltprodukte, die ebenfalls  $\text{CO}_2$  abspalten, entfernt werden, und es muß diejenige Menge Galakturonsäure bestimmt werden, die in der Lösung als wirkliche Polygalakturonsäure die Pektinstoffe bildet.

<sup>12)</sup> Hans Meyer: Analyse u. Konstitutionsermittlung, 5. Aufl., 1931, Teil 1, S. 386.

#### Die Messung der optischen Drehung und des Brechungsindex der Pektinsäfte.

Aus den bisherigen Ausführungen geht wohl klar hervor, daß diese Größen über die Güte des Pektins gar nichts aussagen können, denn sie werden von zu viel unbekannten Faktoren beeinflußt. Der Einfluß der in wechselnder Menge und Zusammensetzung vorhandenen Begleitstoffe des Pektins, wie z. B. Zucker, Pentosane und Spaltprodukte, wiegt mehr als Veränderungen, welche die Pektinstoffe an den Werten selbst ausmachen; aus diesem Grunde ist es überflüssig, solche Messungen auszuführen.

#### Die quantitative Erfassung der Pektinstoffe.

Zur Bestimmung der Menge der vorliegenden Pektinstoffe ist es also nach den vorstehenden Erwägungen zunächst nötig, die kleinen Spaltprodukte sowie die Ballaststoffe zu entfernen, ohne aber die großen Pektinmoleküle, die mehr oder minder methylierten Galakturonsäureketten, zu sehr zu beschädigen. Aus diesem Grunde wird folgende Bestimmungsmethodik zur quantitativen exakten Erfassung vorgeschlagen:

Etwa 2 g der zu messenden Pektinstoffe (bzw. ein aliquoter Teil einer Lösung) wird nach dem langsamen Lösen in 100  $\text{cm}^3$   $\frac{1}{2}\%$ iger Milchsäure 1 h auf dem Wasserbade erhitzt, wobei eine wesentliche Spaltung der säureempfindlichen Pentosane ohne größere Beschädigung der Pektinstoffe erzielt wird; nach dem Erkalten wird diese Milchsäurelösung in  $\frac{1}{2}$  1 70%igem Alkohol ausgefällt.

Das Ausfällen in 70%igem Alkohol löst nicht etwa die Pentosane heraus, wie in der Literatur stets angegeben wird, sondern stellt lediglich eine Fraktionierung dar<sup>13)</sup>. Eine geringere Alkoholkonzentration wäre sinngemäß geeigneter, ist jedoch für Analysen nicht mehr durchführbar. Die Konzentration von 70% ist also lediglich deshalb gewählt, weil sich hiermit gerade noch bequem arbeiten läßt. Durch dieses Ausfällen haben wir die meisten kleineren Moleküle, soweit sie etwa unter 10000–20000 liegen, entfernt. Die Pentosane und Hexosane sind ebenfalls nur soweit beseitigt, wie sie unter den betreffenden Fraktionierungsgrenzen liegen. Da sie aber sehr säureempfindlich sind, so sind sie größtenteils durch die Milchsäurebehandlung unter die Ausfällengrenze gespalten worden.

Die in 70%igem Alkohol ausgefallenen Pektinstoffe werden quantitativ abfiltriert oder besser abdekantiert, nochmals in Wasser gelöst und das Ausfällen in 70%igem Alkohol wiederholt; Die so erhaltenen Produkte sind je nach dem vorliegenden Material bereits etwa 95% reine Pektinstoffe, die von den nicht gelierenden Spaltprodukten und Ballaststoffen befreit sind.

1. Rohbestimmungsmethode: Für die ungefähre Bestimmung können nun diese Gallerten nach weiterem Behandeln mit absolutem Methylalkohol, Aceton und Äther und Trocknen im Vakuum bei 69° (Fischer-Pistole) bis zur Gewichtskonstanz direkt gewogen werden. Der sich ergebende Wert gibt uns (entsprechend der  $\alpha$ -Cellulose-Bestimmung) die Menge der gelierenden Pektinstoffe wieder, wovon jedoch etwa 5% größere Pentosane abgezogen werden müssen.

2. Genaue Bestimmungsmethode: Hierzu muß in dem so gereinigten Produkt die Menge der Carboxylgruppen durch  $\text{CO}_2$ -Bestimmung z. B. nach Töllens-Lefèvre ermittelt werden, aus der man dann die genaue Menge Galakturonsäure berechnen kann, die den gelierenden Bestandteil des zur Analyse vorliegenden Materials ausmacht.

3. Technische Bestimmungsmethode: Da die Trocknung der unter 1 beschriebenen Gallerte mindestens 12 h beansprucht, kann zur technischen Bestimmung folgender Weg gewählt werden, der völlig genaue Werte liefert:

Die nach Ausfällen in 70%igem Alkohol erhaltenen Gallerten werden abgepreßt und an diesem noch methylalkohol-feuchten Material die  $\text{CO}_2$ -Bestimmung auf folgende Weise vorgenommen. Die Gallerte wird mit 12%iger Salzsäure 4 h schwach im  $\text{CO}_2$ -freien Luftstrom erhitzt, und das entstehende  $\text{CO}_2$  in einem gemessenen Überschuß  $\frac{1}{10}$  Barytlange aufgefangen. Durch Zurücktitrieren mit  $\frac{1}{10}$  Bernsteinsäure<sup>12)</sup> erhält man den  $\text{CO}_2$ -Wert und kann daraus die Galakturonsäure berechnen. Die an sich einfache Bestimmung muß in einer gut geschlossenen Apparatur und entsprechend vorsichtig vorgenommen werden, damit durch  $\text{CO}_2$  der Luft keine Fehler entstehen, sonst wende man besser Methode 1 an.

#### Die Bestimmung des Methylalkohols.

Da der Veresterungsgrad der Carboxylgruppe der Pektinstoffe nur eine untergeordnete Rolle bei der Gelierung spielt, kommt seine Bestimmung nur für genaue, wissenschaftliche Analysen in Frage. Durch die Milchsäurebehandlung kann ein Methylalkoholverlust eingetreten sein. Infolge der Beseitigung der Pentosane steigt

<sup>12)</sup> G. G. Schneider u. H. Bock, Ber. dtsch. chem. Ges. **70**, 1622 [1937].

zwar durch die Milchsäurebehandlung der Methylalkoholwert an, vergleicht man jedoch diesen mit dem ursprünglichen Methylalkoholgehalt nach Abzug der von Methylalkohol nahezu völlig freien Ballaststoffe und Spaltprodukte, so ist oft ein kleines Absinken zu bemerken. Es wird deshalb am besten der Methylalkohol nicht nur von dem völlig gereinigten Produkt, sondern auch von dem Pektin vor der Milchsäurebehandlung bestimmt und daraus der ursprüngliche Methylalkoholgehalt abgeschätzt. Benötigt man aus irgendeinem Grunde genau den Methylalkoholwert, so muß man durch wiederholtes Fraktionieren in Alkohol sinkender Konzentration bei äußerster Vorsicht die Pentosane und Spaltprodukte entfernen, was jedoch äußerst zeitraubend ist.

### Die Messung der Qualität der Pektinstoffe.

Zur Beurteilung der Qualität der Pektinstoffe schlagen wir die Bestimmung des Durchschnittsmolekulargewichts vor, da dieses im Gegensatz zu allen Geleefprüfungen völlig objektive, reproduzierbare, quantitative Werte ergibt. Dabei dauert eine Molekulargewichtsbestimmung nicht länger als eine Calciumpektatbestimmung und läßt sich serienmäßig bequem durchführen.

#### Die Viscositätsmessung an Nitropektin.

1 g trockene Substanz der zu untersuchenden Pektinstoffe wird in 150 cm<sup>3</sup> rauchender Salpetersäure vom spez. Gewicht 1,54 bei hohem NO-Gehalt<sup>14)</sup> unter mechanischem Röhren 1 h bei 20° nitriert. Die Pektinstoffe, die möglichst gut zerteilt oder zerfasert sein müssen, lösen sich in der Salpetersäure. Sollten Reste ungelöst bleiben, was von verhornten Teilen herrührt, so filtriert man über Glaswolle ab und fällt nun die Lösung von Nitropektin in Salpetersäure in Wasser (etwa 5 l) unter starkem Röhren aus. Das Nitropektin fällt als weißes, flockiges Produkt an. Man filtriert ab, wäscht mehrmals nach, bis die Säure entfernt ist, saugt auf der Nutsche ab und entzieht größtenteils durch Behandeln (nicht trocknen) mit Methylalkohol das Wasser. Daraufhin kann man bereits das Nitropektin in Aceton lösen und die Messungen ausführen. Die Acetonlösungen werden sicherheitshalber filtriert oder zentrifugiert. Man verdünnt nun die Lösung so weit mit Aceton, daß man eine 0,1—0,2%ige Lösung besitzt, und mißt die Viscosität des verwendeten Acetons und daraufhin die Viscosität der Lösung. Da man nicht weiß, ob man im speziellen Falle im Gebiet der Gel- oder Sollösungen sich befindet, muß man die Konzentration halbieren, indem man um das Doppelte mit Aceton verdünnt und wieder die Viscosität mißt; dies wiederholt man so lange, bis der  $\frac{\eta_{\text{spez.}}}{c}$ -Wert

mit der Konzentration auf die Hälfte sinkt, d. h.  $\frac{\eta_{\text{spez.}}}{c}$  konstant

bleibt. Dieser Wert  $\frac{\eta_{\text{spez.}}}{c}$  ist proportional der Molekülgroße; man braucht ihn nur durch die  $K_m$ -Konstante zu dividieren, die von uns zu etwa  $6 \cdot 10^{-4}$  ermittelt wurde<sup>15)</sup>, und hat das Molekulargewicht. Man wird sich aber wohl für diesen Fall stets auf  $\frac{\eta_{\text{spez.}}}{c}$  als absoluten Zahlenwert beziehen, um so von jeder Konstante frei zu sein. Als Viscosimeter bewährt sich für diesen Zweck am besten das Höppler-Viscosimeter. Die Konzentration der Lösung, von der man bei den Verdünnungen ausgeht, wird in einer Probe durch vorsichtiges Eindampfen bei 60° und Trocknen des erhaltenen Nitropektinfilmes bei 80° bis zur Gewichtskonstanz erhalten. Der Nitropektinfilm darf nur dünn sein. Die Nitrierung und Bestimmung des Esters dauert etwa 3 h, lediglich die Gehaltsbestimmung der Acetonlösung durch Verdampfen des Acetons dauert etwas länger. Gestaltet man die Nitrierung quantitativ, so ergibt die Menge des Nitropektins einen wichtigen Hinweis auf die Menge Galakturonsäure.

#### Bestimmung der Gelierkraft des Pektins.

Für die Beurteilung einer Pektinlösung dient heute in der Technik als Probe die Messung der Gelierkraft einer wässrigen Pektinlösung mit Zucker unter Zusatz von Säure. Ein großer Nachteil dieser Methode besteht darin, daß man 48 h warten muß und daß das pH-Optimum der Geleebildung sich mit dem Pektингehalt ändert. Es wurde deshalb von uns eine Schnellprobe ausgearbeitet, die pH unabhängig schon in 2 h Vergleichswerte ergibt. Dazu benutzen wir die Eigenschaft

<sup>14)</sup> Es sind natürlich nur die Molekülgroßen der Pektinester vergleichbar, die mit der gleichen Säure hergestellt worden sind. Wendet man nur wenig verschieden konz. Säuren an, so ändern sich die absoluten Werte, ohne daß sich in relativer Beziehung etwas ändert. Man muß in diesem Falle die Säure mit Standardpräparaten eichen. Zur Standardisierung der Säure wäre es zweckmäßig, wenn diese mit konstantem spez. Gewicht und hohem NO-Gehalt für diesen speziellen Zweck von einer Firma geliefert würde.

<sup>15)</sup> G. G. Schneider u. U. Fritschi, I. c.

des in Aceton ausgefällten Pektins, sich beim Erhitzen in Glycerin zu lösen, und diese Lösung erstarrt beim Abkühlen sofort zu einem Gelee, dessen Festigkeit nach den üblichen Methoden gemessen werden kann und proportional der Molekülgroße ist. Durch die Ausfällung des durch Auskochen aus Obst mit mehr oder minder hohem Gehalt an Säure hergestellten Pektins in Aceton wird dies von Säure befreit, und das davon ohne Säure- und Wasserzusatz in Glycerin hergestellte Glyceringelee hat praktisch immer das gleiche pH. Die Bestimmungen an diesem Gelee liefern in 2—3 h einen sicheren Hinweis auf die Güte der Pektinstoffe.

Ausführung: Eine genau abgemessene Menge der Pektinlösung wird in konz. Aceton ausgefällt, das ausgefallene Pektin abgenutzt, durch Ausspülen mit Äther von Aceton befreit und, ohne den überschüssigen Äther abzupressen, in eine bestimmte Menge Glycerin eingetragen. Das Pressen eines solchen Kolloids verändert wesentliche Eigenschaften, z. B. die Löslichkeit, und beeinflußt deshalb die Gelierung. Durch 1 stündiges Erhitzen auf dem Wasserbad unter Röhren werden Äther und Aceton verdampft. Zur völligen Lösung wird die Probe darauf ganz kurz auf 100° erhitzt und dann stehengelassen. Die Lösung erstarrt ungefähr nach 1 h zu einem Gelee, dessen Festigkeit gemessen werden kann.

#### Diskussion der Analysenmethodik und ihre Auswertung.

In Anbetracht der Kompliziertheit der Pektinstoffe müssen die Ergebnisse, zu denen man durch die geschilderten Methoden gelangt, mit einem gewissen Verständnis ausgewertet werden. So kann bei gleichem Durchschnittsmolekulargewicht und gleichem Milchsäuretest die Gelierfähigkeit zweier Pektine trotzdem verschieden sein, wenn die eine Probe die doppelte Menge Trockensubstanz, demnach große Mengen Spaltprodukte und Pentosane enthält; denn die großen Mengen kleiner Moleküle setzen das Durchschnittsmolekulargewicht herab, obwohl vielleicht größere Moleküle vorliegen als bei der anderen Substanz.

Es ist daher unbedingt notwendig, das Trockengewicht gegen den Milchsäuretest und die Durchschnittsmolekulargröße, gemessen durch  $\frac{\eta_{\text{spez.}}}{c}$ , abzuwagen. Aus diesen 3 Werten erhält man bei jedem Pektin ein quantitatives Bild, das mit der Gelierfähigkeit übereinstimmt.

Beispiel	Trocken- substanz	Milchsäure- test	$\frac{\eta_{\text{spez.}}}{c}$	Geleefestigkeit
Pektinsaft I	9,9	3,1	52	Gleiche Mengen Pektinsaft geben ungefähr gleiche Geleefestigkeit
Pektinsaft II	4,8	2,9	85	
Pektinsaft III	4,8	2,9	52	Schlechtere Geleefestigkeit als I u. II

Der Pektinsaft II besteht zu 60% aus gelierfähigem Pektin, bezogen auf den Trockengehalt. Seine Durchschnittsmolekulargröße, bezogen auf 100% und ausgedrückt durch  $\frac{\eta_{\text{spez.}}}{c} = 86$ , ist sehr hoch, verglichen mit Kurve 1; wir haben also sehr gute Gelierfähigkeit zu erwarten. Pektinsaft I dagegen besteht nur zu 30% aus gelierfähigem Pektin (ebenfalls bezogen auf den Trockengehalt), deshalb ist sein Durchschnittsmolekulargewicht (immer bezogen auf 100%) auf 52 herabgedrückt, da er 70% Ballaststoff und Spaltprodukte enthält. Diese 30% an gelierfähigen Molekülen haben, wie sich leicht ausrechnen läßt, ebenfalls ein  $\frac{\eta_{\text{spez.}}}{c}$  über 80, und somit zeigt Produkt I mit dem doppelten Trockengehalt, aber dem gleichen Milchsäuretest, ungefähr dieselbe Gelierfähigkeit wie Produkt II. Der Pektinsaft I ist also gewissermaßen dasselbe Produkt wie Pektinsaft II, lediglich enthält I etwa 50% Ballaststoffe und Spaltprodukte. Der Pektinsaft III jedoch hat bei gleichem Trockengehalt und gleichem Milchsäuretest ein geringeres Durchschnittsmolekulargewicht als Pektinsaft II, muß also eine schlechtere Gelierfähigkeit aufweisen, was auch der Fall ist.

#### Zusammenfassung.

Es wurde bewiesen, daß die Gelierfähigkeit der Pektinstoffe eine unmittelbare Funktion der Molekülgroße ist. Weiter wurde gezeigt, daß die Calciumpektatmethode wie auch die übrigen Bestimmungsmethoden zu völlig falschen Werten führen, da sie auf falschen theoretischen Grundlagen entwickelt sind. Es werden neue Methoden vorgeschlagen, welche die Pektinstoffe sowohl qualitativ wie quantitativ erfassen.

Herrn Prof. Dr. F. A. Henglein danken wir auch an dieser Stelle für die fördernde Unterstützung der Arbeit. [A. 1.]